










**Concentrated injectable solution of alkaline metal salts of reduced folates.****Publication number:** EP0667159 (A2)**Publication date:** 1995-08-16**Inventor(s):** BUCHS PETER [CH]; MARAZZA FABRIZIO [CH]**Applicant(s):** CERBIOS PHARMA SA [CH]**Classification:****- international:** **A61K9/00; A61K9/08; A61K31/505; A61K47/02; A61K9/00; A61K9/08; A61K31/505; A61K47/02;** (IPC1-7): A61K31/505; A61K9/08; A61K47/02**- European:** A61K9/00M5; A61K9/08; A61K31/505; A61K31/505; A61K47/02**Application number:** EP19950101954 19950214**Priority number(s):** CH19940000432 19940214**Also published as:** EP0667159 (A3)  
 EP0667159 (B1)  
 ES2123844 (T3)  
 CH687062 (A5)**Cited documents:** US5124452 (A)  
 WO9010460 (A1)  
 US2695860 (A)  
 EP0416232 (B1)  
 EP0401895 (A1)

more &gt;&gt;

**Abstract of EP 0667159 (A2)**

Stable concd. solns., esp. injection solns., comprising water and a cpd. (I) selected from Na leucovorin, K leucovorin, Na 5-methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolate and K 5-methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolate are new (N.B., leucovorin is also referred to as 5-formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolic acid or folic acid).

---

Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide

19



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



11 Veröffentlichungsnummer: **0 667 159 A2**

12

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

21 Anmeldenummer: **95101954.6**

51 Int. Cl.<sup>6</sup>: **A61K 31/505**, A61K 47/02,  
A61K 9/08

22 Anmeldetag: **14.02.95**

30 Priorität: **14.02.94 CH 432/94**

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**16.08.95 Patentblatt 95/33**

84 Benannte Vertragsstaaten:  
**CH DE ES FR GB IT LI**

71 Anmelder: **Cerbios-Pharma S.A.**  
**Via Plan Scairolo 6**  
**CH-6917 Barbengo (CH)**

72 Erfinder: **Buchs, Peter**  
**Via Roncone**  
**CH-6927 Agra (CH)**  
Erfinder: **Marazza, Fabrizio**  
**Rombosco**  
**CH-6986 Novaggio (CH)**

74 Vertreter: **Zink-Wild, Markus Peter**  
**Patentanwaltsbüro Zink,**  
**Birchlistrasse 11**  
**CH-8173 Riedt-Neerach (Zürich) (CH)**

54 **Konzentrierte Injektionslösung von Alkalimetallsalzen von reduzierten Folaten.**

57 Die erfindungsgemässe konzentrierte, stabile Lösung, insbesondere eine Injektionslösung, ist dadurch gekennzeichnet, dass sie nebst Wasser entweder Natrium-Leucovorin oder Kalium-Leucovorin oder Natrium-N-(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder Kalium-N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure enthält.

Es wird auch ein Verfahren zur Herstellung dieser Lösung sowie deren Verwendungen beschrieben.

EP 0 667 159 A2

Die vorliegende Erfindung betrifft eine konzentrierte, stabile Lösung, insbesondere eine Injektionslösung, und ein Verfahren zur Herstellung dieser Injektionslösung.

N(5)-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure, auch Folsäure genannt, wird in der Form des Calciumsalzes (Calcium-Leucovorin USP) als Mittel in der Krebs-Chemotherapie verwendet.

5 Dieses Mittel wird sowohl für Hilfeleistungen (rescue agent) nach Behandlung mit hohen Dosen des cytostatischen Mittels Methotrexat als auch in Kombination mit dem Antikrebsmittel 5-Fluorouracil (5-FU) verwendet.

Siehe zum Beispiel:

1. The clinical pharmacology of methotrexate, J.H. Schornagel und J.G. McVie, Cancer Treatment  
10 Reviews (1983), 10, 53.

2. Die biochemische Modulation von 5-FU durch Leucovorin, M. Borner, K. Brunner, Schweiz. Med. Wschr., (1991), 121, 1149.

Folsäure wird auch verwendet für die Behandlung von megaloblastischen Anämien und Dihydropteridin Reduktase Defizienz.

15 Diese therapeutischen Verwendungen von Folsäure erfordern manchmal die intravenöse Verabreichung von hohen Dosen, beispielsweise 100 bis 200 mg/m<sup>2</sup> Körperoberfläche.

Weil Calcium-Leucovorin in Wasser relativ schlecht löslich ist (etwa 1 Gew. -% bei Raumtemperatur) besteht ein starker Bedarf an einer Formulierung, welche eine höhere Konzentration des aktiven Prinzips enthält.

20 Mit solchen hohen Konzentrationen kann vermieden werden, dass unannehmbar hohe Dosen an Lösung injiziert werden müssen.

Wenn, gemäss einer privaten Mitteilung von Dr. C. Young vom Memorial Sloan Kettering Cancer Center in New York, 5-FU und Leucovorin in einer einzigen Infusion miteinander kombiniert sind, im Sinne einer Behandlungsvorschrift mit 5-FU, dann trägt die Anwesenheit von Calciumionen zur Blockierung des  
25 Katheters bei.

Wenn der Gehalt an Leucovorin nicht stark reduziert wird, dann wird die Blockierung des Katheters durch einen Niederschlag zu einem sich wiederholenden Problem.

Es ist berichtet worden, dass der Niederschlag Calciumcarbonat ist, wahrscheinlich gebildet durch die Reaktion von Calcium mit Plasma-bicarbonat bei oder in der Nähe der Katheterspitze.

30 Die therapeutische Verwertung von Leucovorin könnte erhöht werden durch die Verfügbarkeit eines besser löslichen calciumfreien Leucovorin-Salzes.

Im Stand der Technik sind bis jetzt zwei Injektionslösungen auf der Basis von Folaten bekannt:

A. In der Europäischen Patentanmeldung Nr. 90 112 426.3, Veröffentlichungs-Nr. 0 416 232 A2 wird eine stabile injizierbare pharmazeutische Formulierung für Folsäure und Leucovorin beschrieben.

35 Diese Formulierung enthält nebst einem wasserlöslichen, pharmazeutisch annehmbaren Salz von Folsäure oder Leucovorin verschiedene Stabilisierungsmittel, wie etwa Benzylalkohol, Tromethamin und Monothioglycerol.

Diese Formulierung kann maximal 2,5 % an Calcium-Leucovorin enthalten.

Die verschiedenen Stabilisierungsmittel sind sicherlich ein Nachteil, weil einzelne Komponenten nicht  
40 in allen Pharmacopeias als pharmakologisch annehmbar in injizierbaren Präparaten beschrieben sind.

B. In der Europäischen Patentanmeldung Nr. 90 201 353.1, Veröffentlichungs-Nr. 0 401 895 A1 wird eine wässrige Calcium-Folinalösung beschrieben, welche bei Kühlschranktemperatur stabil ist. Diese Lösung muss ein Komplexmierungsmittel für Calcium enthalten.

Als einziges Komplexmierungsmittel wird Ethylendiamin-tetraacetat (EDTA) genannt.

45 Diese Lösung kann maximal 2,7 % an Calcium-Folinal enthalten.

EDTA und ähnliche Komplexmierungsmittel sind nicht annehmbar als Komponenten in einer Injektionslösung.

Es ist ein Ziel der vorliegenden Erfindung, die oben genannten Nachteile zu überwinden.

50 Es ist ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung, eine konzentrierte, stabile Lösung auf der Basis von Folaten zur Verfügung zu stellen, welche weder ein Stabilisierungsmittel noch ein Komplexmierungsmittel enthält.

Es wurde nun völlig überraschend gefunden, dass die erfindungsgemässen Lösungen bei Temperaturen von 0°C bis 5°C ohne die Hinzugabe von Stabilisierungsmitteln und/oder Komplexmierungsmitteln während wenigstens 12 Monaten stabil sind.

55 Die erfindungsgemässe konzentrierte, stabile Lösung, insbesondere eine Injektionslösung, ist dadurch gekennzeichnet, dass sie nebst Wasser entweder Natrium-Leucovorin oder Kalium-Leucovorin oder Natrium-N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder Kalium-N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure enthält.

Das erfindungsgemässe Verfahren zur Herstellung einer erfindungsgemässen konzentrierten, stabilen Lösung, insbesondere eine Injektionslösung, ist dadurch gekennzeichnet, dass man Folinsäure oder N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure in Wasser, welches entgast und für die Herstellung von Injektionslösungen annehmbar ist, bei Raumtemperatur unter einer Inertgasatmosphäre suspendiert, dann eine wässrige Lösung von Natrium- oder Kalium-hydroxid, -hydrogencarbonat oder -carbonat portionenweise so lange hinzugibt, bis eine klare Lösung entstanden ist, welche den jeweils gewünschten pH-Wert aufweist, die erhaltene Lösung einer sterilen Filtration unterwirft, und die erhaltene sterile Lösung unter einer Inertgasatmosphäre in Ampullen abfüllt.

Bevorzugte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung sind in den abhängigen Ansprüchen definiert.

Das nachfolgende Beispiel illustriert die vorliegende Erfindung.

#### Beispiel

200,7 g Folinsäure mit einem Wassergehalt von 10,2 Gew.-% - beispielsweise hergestellt gemäss E. Khalifa, A.N. Ganguly, J.H. Bieri und M. Viscontini, Helv. Chim. Acta, Vol 63, 2554, (1980) - wurden in 2,5 Liter entgastem, sterilem Wasser unter einer Stickstoffatmosphäre und unter Rühren bei Raumtemperatur suspendiert.

Anschliessend wurde unter Rühren eine 10%-ige wässrige Natriumhydroxidlösung hinzugegeben, bis eine klare Lösung entstanden war, welche einen pH-Wert von 8,0 hatte.

Die erhaltene klare Lösung wurde durch Hinzugabe von entgastem, sterilem Wasser auf ein Volumen von 3,6 Liter verdünnt.

Diese verdünnte Lösung wurde einer sterilen Filtration (Porengrösse: 0,2 Mikrometer) unterworfen.

Das erhaltene sterile Filtrat wurde unter einer Stickstoffatmosphäre in Glasampullen abgefüllt.

Diese Ampullen wurden in einem Kühlschrank bei einer Temperatur von 4 °C gelagert.

Dabei wurden für die in die Ampullen abgefüllte Lösung die folgenden Stabilitätsdaten erhalten:

| Zeit (Monate) | Gehalt in % (HPLC-Analyse) |
|---------------|----------------------------|
| 0             | 100                        |
| 3             | 99,0                       |
| 6             | 96,8                       |
| 12            | 95,2                       |

Nach 12 Monaten war die Lösung immer noch klar; Niederschläge konnten keine festgestellt werden.

#### Patentansprüche

- Konzentrierte, stabile Lösung, insbesondere eine Injektionslösung, dadurch gekennzeichnet, dass sie nebst Wasser entweder Natrium-Leucovorin oder Kalium-Leucovorin oder Natrium-N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder Kalium-N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure enthält.
- Lösung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie von 2 bis 15 Gew.-%, insbesondere von 2 bis 6 Gew.-%, vorzugsweise 5 Gew.-%, Natrium-Leucovorin oder Kalium-Leucovorin oder Natrium-N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder Kalium-N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure enthält.
- Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 2, dadurch gekennzeichnet, dass sie einen pH-Wert im Bereich von 7,5 bis 8,5, insbesondere 7,9 bis 8,1, vorzugsweise 8,0, aufweist.
- Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass sie in Ampullen abgefüllt ist, welche in ihrem Innenraum eine Inertgasatmosphäre, insbesondere eine Stickstoffatmosphäre, haben.
- Verfahren zur Herstellung einer konzentrierten, stabilen Lösung, insbesondere einer Injektionslösung, nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass man Folinsäure oder N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure in Wasser, welches entgast und für die Herstellung von Injektionslösungen annehmbar ist, bei Raumtemperatur unter einer Inertgasatmosphäre suspendiert, dann eine wässrige Lösung von Natrium- oder Kalium-hydroxid, -hydrogencarbonat oder -carbonat portionenweise so lange hinzugibt, bis eine klare Lösung entstanden ist, welche den jeweils gewünschten pH-Wert aufweist, die

## EP 0 667 159 A2

erhaltene Lösung einer sterilen Filtration unterwirft, und die erhaltene sterile Lösung unter einer Inertgasatmosphäre in Ampullen abfüllt.

- 5 6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die genannte klare Lösung von 2 bis 15 Gew.-%, insbesondere von 2 bis 6 Gew.-%, vorzugsweise 5 Gew.-%, Natrium-Leucovorin oder Kalium-Leucovorin oder Natrium-N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure oder Kalium-N(5)-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure enthält.
- 10 7. Verfahren nach einem der Ansprüche 5 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die genannte klare Lösung einen pH-Wert im Bereich von 7,5 bis 8,5, insbesondere 7,9 bis 8,1, vorzugsweise 8,0, aufweist.
8. Verwendung der Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Arzneimittels für  
15 Hilfeleistungen - rescue agent - nach Behandlung mit hohen Dosen an Methotrexat.
9. Verwendung der Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Arzneimittels,  
welches kombiniert ist mit 5-Fluorouracil.
- 20 10. Verwendung der Lösung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung eines Arzneimittels für die  
Behandlung von megaloblastischen Anämien und Dihydropteridin Reduktase Defizienz.

25

30

35

40

45

50

55